

УДК 615.277.3:615.9.065:616-092.4

СОЗДАНИЕ РЕЗОРБИРУЕМЫХ МАТРИКСОВ, НАГРУЖЕННЫХ ЦЕФАЗОЛИНОМ, ДЛЯ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ДОСТАВКИ И ПОДАВЛЕНИЯ СТАФИЛОКОККА

Умняшкина О. С.

научный руководитель – д-р биол. наук, проф. Т. Г. Волова

Сибирский федеральный университет

Институт биофизики СО РАН

Перспективным направлением в биотехнологии и фармакологии является создание систем контролируемой доставки лекарственных средств нового поколения. Главная функция таких систем – высвобождение лекарственного препарата постепенно, в нужных дозах и в течение требуемого промежутка времени. Широкое использование в лечении онкологических заболеваний и воспалительных процессов.

Для создания таких систем перспективен бактериальный поли-3-гидроксibuтират (ПГБ). В последнее время ПГБ и его сополимеры, полученные биотехнологическим способом, привлекают большое внимание как биodeградируемые и биосовместимые полимеры в медицине. Способность ПГБ к инкапсуляции и дальнейшему пролонгированному высвобождению различных химических веществ, в том числе обладающих фармакологической активностью, позволяет использовать его для создания лекарственных полимерных систем для контролируемого высвобождения.

Цель настоящей работы - создание различных лекарственных форм из ПГБ и изучение динамики выхода из них антибиотика.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Подобрать антибиотик пролонгированного действия, пригодный для депонирования в полимерный матрикс и эффективный по отношению к возбудителям стафилококковой инфекции;
2. Получить экспериментальную лекарственную форму в виде плёнок, микрочастиц, гранул, прессованных форм, нетканого волокна из резорбируемых полиэфиров гидроксипроизводных жирных кислот;
3. Исследовать динамику выхода антибиотика из этих лекарственных форм;
4. Оценить зависимость оттока лекарства от формы лекарственного препарата;
5. Оценить антибиотический эффект разработанного препарата на примере растущей на плотной среде культуры *Staphylococcus aureus*.

В качестве депонируемого лекарственного средства был взят полусинтетический цефалоспориновый антибиотик I поколения широкого спектра действия – цефазолин. Предварительно произвели оценку антибиотика на стабильность: растворяли в хлористом натрии, экспонировали в термостате и измеряли спектры поглощения в первый и последующие дни. По истечении 11 суток экспонирования проб, спектр поглощения цефазолина не изменился (сдвига вправо и влево не произошло). Следовательно, можно сделать вывод, что антибиотик стабилен и подходит для создания долговременной лекарственной формы.

Сконструированы экспериментальные лекарственные формы в виде плёнок, микрочастиц, гранул, прессованных форм, нетканого волокна из резорбируемого полиэфира 3-гидроксibuтирата. Количество депонируемого антибиотика в матриксу составило 10 % от массы полимера. Пленки получали методом полива раствора ПГБ в дихлорметане на обезжиренную поверхность чашек Петри; микрочастицы - методом испарения растворителя из трехкомпонентной эмульсии, которая предварительно была

гомогенизирована с помощью мешалок и ультразвуковой обработки. Для получения прессованных форм полимер гомогенизировали с антибиотиком и помещали в пресс-форму. В результате получали таблетки с содержанием цефазолина 15 мг на 150 мг полимера. Гранулы получались постепенным механическим осаждением капли раствора полимера в дихлорметане, создаваемой с помощью шприца на высоте 15 см от осадителя – гексана.

Содержание цефазолина в пробах определяли на спектрофотометре при длине волны 273 нм. Для построения калибровочного графика использовали растворы цефазолина в ФСБ известной концентрации. С помощью него определили количественное содержание лекарства включившегося в лекарственные формы.

Была исследована динамика выхода инкапсулированного цефазолина, включенного в матриксы, *in vitro*. Профиль выхода в модельной среде (ФСБ) показан на рисунке 1.

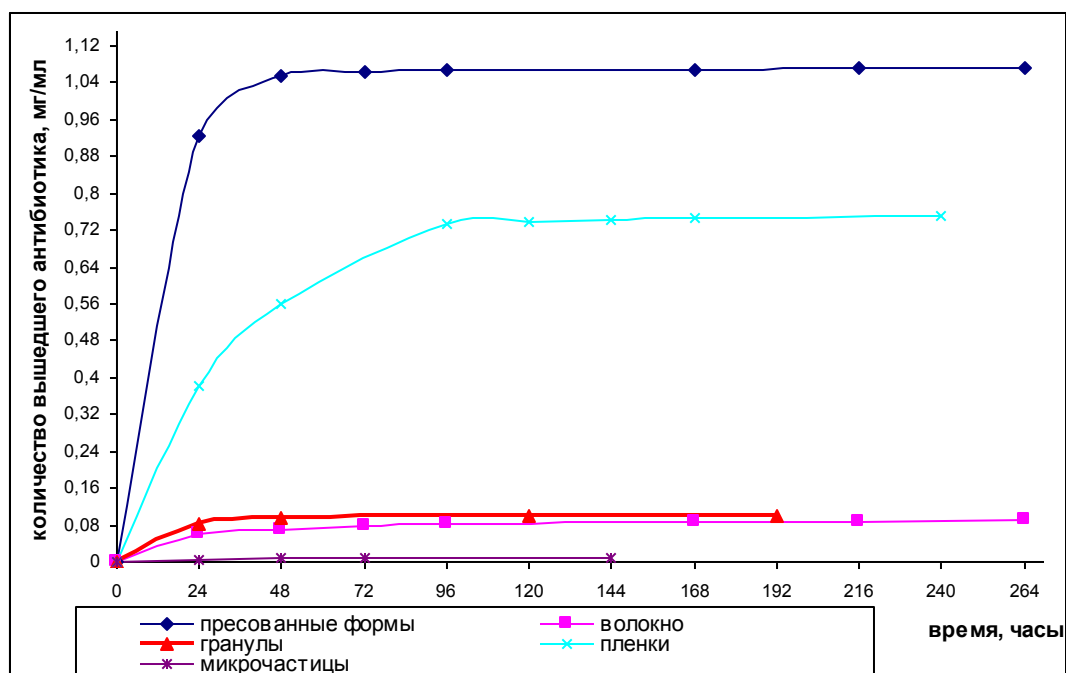


Рис. 1. Профиль выхода цефазолина из матриксов *in vitro*

Наиболее активно антибиотик выходил из прессованных форм. В первые сутки вышло $0,92 \pm 0,19$ мг/мл. В последующие часы наметился выход кривой профиля на плато, и скорость выхода препарата начала снижаться. Спустя 264 часа от начала эксперимента в среднем выход цефазолина составил $1,07 \pm 0,05$ мг/мл.

Из пленок по истечении 96 часов вышло $0,73 \pm 0,05$ мг/мл. За время всего эксперимента вышло $0,75 \pm 0,006$ мг/мл.

Отток лекарственного препарата из гранул и волокна имел близкие значения. По истечении всех суток экспонирования выход цефазолина составил $0,10 \pm 0,008$ мг/мл и $0,09 \pm 0,007$ мг/мл соответственно.

Для микрочастиц характерен более медленный выход препарата. После 144 часов экспонирования выход составил $0,01 \pm 0,001$ мг/мл.

Длительный отток препарата из полимерных матриксов позволяет сделать вывод о перспективах использования ПГБ для создания новых лекарственных форм пролонгированного действия.

Антибиотикочувствительность полученных лекарственных форм была изучена диско-диффузионным методом на примере культуры *Staphylococcus aureus*,

основанным на регистрации диаметра зоны ингибиции роста исследуемого микроорганизма вокруг круглого носителя антибиотика.

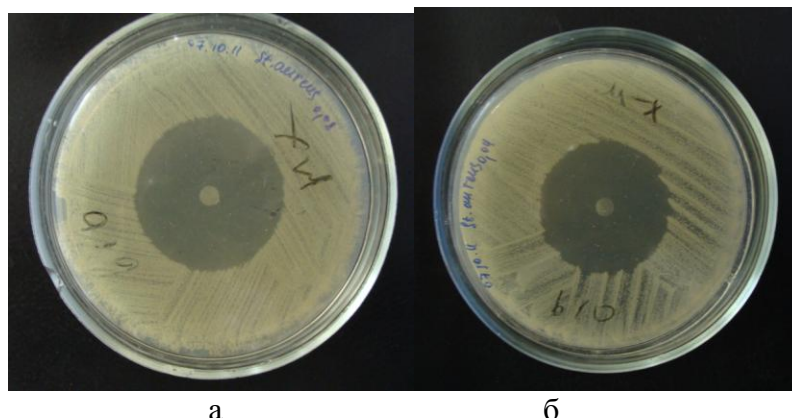


Рис.5. Фотографии чашек Петри после инкубации:
диски с цефазолином 0,9 мг (а) и 0,5 мг (б)

плёнка	средний диаметр, мм
цефазолин 0,9 мг	$42,67 \pm 2,52$
цефазолин 0,5 мг	$39 \pm 1,7$

Таблица 1. Диаметр зон задержки роста культуры *Staphylococcus aureus* при контакте с пленочными дисками

По табличным данным МПК (мкг/мл) для референтных штаммов микроорганизмов с обычными питательными потребностями (в нашем случае *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, антибиотик цефазолин) составляет 0,25 – 1,0; а значение диаметров зон ингибиции роста (мм) – 29-35. Сравнивая эти значения с полученными в ходе эксперимента, можно сделать вывод о высоком антибиотическом эффекте сконструированных нами лекарственных препаратов.

Выводы:

1. Подобран антибиотик пролонгированного действия - цефазолин, пригодный для депонирования в полимерный матрикс и эффективный по отношению к возбудителям стафилококковой инфекции;
2. Получены формы антибиотического препарата нового поколения в виде плёнок, микрочастиц, гранул, прессованных форм, нетканого волокна;
3. Исследована динамика выхода антибиотика: значительный отток препарата из прессованных форм, меньше всего выход антибиотика составил из микрочастиц. Причиной этого является разница в морфологии и размерах матриксов, в эффективности инкапсулирования;
4. На примере культуры *Staphylococcus aureus* был подтвержден антибиотический эффект разработанного препарата.